

野桑蚕性信息素结合蛋白基因 *pbp1*、气味受体基因 *or1* 和 *or3* 的克隆及其与家蚕同源基因的进化分析

张升祥^{1,2}, 徐世清², 孔令斐², 司马杨虎², 崔为正^{1,*}

(1. 山东农业大学林学院, 山东泰安 271018; 2. 苏州大学基础医学与生物科学学院, 江苏苏州 215123)

摘要: 昆虫能够特异性识别同类异性。雄蚕蛾对雌蚕蛾感知定位过程中, 性信息素结合蛋白 PBP1、气味受体 OR1 和 OR3 起重要作用。为研究家蚕 *Bombyx mori* 和野桑蚕 *Bombyx mandarina* 杂交困难的分子机制, 了解性识别相关基因的进化, 本研究克隆得到了野桑蚕的性信息素结合蛋白基因 *pbp1* (GenBank 注册号: GQ246497) 和气味受体基因 *or1* (GenBank 注册号: GQ246496) 和 *or3* (GenBank 注册号: GQ246498)。序列分析发现, 家蚕与野桑蚕相比, *pbp1* 基因存在 4 个 SNP 位点, 分别为 C10A, A40T, T270C 和 A333G, 其中 2 个 SNP 位点引起氨基酸的改变, 分别为 Q→K 和 N→Y; *or1* 基因存在 5 个 SNP 位点, 分别为 T910C, A1147C, A1192T, T1276C 和 G1282A, 其中 1 个 SNP 位点引起氨基酸 F→L 的改变; *or3* 基因存在 4 个 SNP 位点, 分别为 A507G, A513G, T605C 和 G672A, 其中 1 个 SNP 位点引起氨基酸 I→T 的改变。3 个基因的遗传距离很近, 进化速率也很慢。氨基酸的分子量和等电点有细微差异或无差异。PHD 预测的二级结构表明, 变异位点对附近区域的结构没有任何影响, 功能位点也没有变化。推测家蚕与野桑蚕之间, 这些基因功能可能没有差异, 即二者的雌雄性个体间可以相互感知、识别, 这与实验观察结果一致。

关键词: 野桑蚕; 家蚕; 性信息素结合蛋白基因; 气味受体基因; 性识别

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2009)08-0917-06

Cloning of *pbp1*, *or1* and *or3* from wild silkworm *Bombyx mandarina* and evolutionary analysis with the orthologous genes of domesticated silkworm *Bombyx mori*

ZHANG Sheng-Xiang¹, XU Shi-Qing², KONG Ling-Fei², SIMA Yang-Hu², CUI Wei-Zheng^{1,*} (1. College of Forestry, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China; 2. College of Basic Medicine and Biological Sciences, Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China)

Abstract: Insects can specially recognize the opposite sexes of the same species. PBP1, OR1 and OR3 play an important role in the process of the male silkworm *Bombyx mori* perception and location of the females. For the purpose of finding out the molecular mechanism of difficult hybridization of *B. mori* and *B. mandarina*, and understanding the evolution of related genes to sexual recognition between the two species, we cloned three genes (*Bmmpbp1*, GenBank ID: GQ246497; *Bmmor1*, GenBank ID: GQ246496; *Bmmor3*, GenBank ID: GQ246498) of wild silkworm *B. mandarina*. Sequences analysis revealed that between the two species there were 4 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) (C10A, A40T, T270C and A333G) in *pbp1*, two of which caused amino acid variation (Q to K, N to Y); there were 5 SNPs (T910C, A1147C, A1192T, T1276C and G1282A) in *or1* and only 1 induced amino acid variation (F to L), and there were 4 SNPs (A507G, A513G, T605C and G672A) in *or3* and 1 caused amino acid mutation (I to T). The genetic distances of the three genes are close and the evolution velocities are low. Secondary structure predicted by PHD program on line suggested that mutation sites had no influence on the adjoining regions, or on the functional sites. There are presumably no functional differences in these genes of the two related moths. Namely, male and female individuals could perceive and recognize mutually between the two species. Our findings were consistent with the experimental observations.

Key words: *Bombyx mandarina*; *Bombyx mori*; pheromone binding protein gene; olfactory receptor gene; sexual recognition

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(“973”计划)项目(2005CB121005)

作者简介: 张升祥, 男, 1972 年 12 月生, 硕士, 讲师, 博士研究生, 主要从事家蚕遗传育种和分子生物学研究, E-mail: zsx@sdau.edu.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: wzui88@163.com

收稿日期 Received: 2009-05-11; 接受日期 Accepted: 2009-06-16

家蚕 *Bombyx mori* 是从中国的野桑蚕 *Bombyx mandarina* 驯化而来, 野桑蚕和家蚕的亲缘关系很近, 为蚕蛾属的不同种。家蚕基因组工作框架图的完成 (Mita *et al.*, 2004; Xia *et al.*, 2004; The International Silkworm Genome Consortium, 2008), 为深入研究家蚕基因库奠定了基础, 同时作为鳞翅目的模式昆虫, 也为其他昆虫的研究提供了便利。野桑蚕作为丰富的野生蚕业资源, 是可开发利用的宝贵基因库资源, 同时也是研究家蚕起源分化的重要材料 (鲁成等, 2002)。

很多研究将家蚕和野桑蚕杂交, 开展了利用野桑蚕的优良基因改造家蚕及相关研究 (彭卫平, 1987; 张友洪等, 2004; 贡成良等, 2005; 李兵等, 2006)。但是二者在杂交过程中交配较为困难, 特别是家蚕雄蛾与野蚕雌蛾交配成功率更低。在昆虫雌雄蛾性引诱和性识别的过程中, 气味结合蛋白 (odorant binding protein, OBP) 和气味受体 (olfactory receptor, OR) 起重要作用。OBPs 与外界脂溶性的挥发性气味分子结合, 携带其穿过亲水性的血淋巴液, 激活嗅觉神经元末梢外膜上的 ORs, 产生感受器电位, 经过一系列级联反应, 到达中枢神经系统 (Hildebrand 1996; Prestwich, 1996; Oldham *et al.*, 2000; Leal *et al.*, 2005; Syed *et al.*, 2006), 从而产生相应的行为反应。在此过程中, 家蚕 OBPs 之一的性信息素结合蛋白 1 (*Bombyx mori* pheromone-binding protein 1, *BmPBP1*) 能特异地结合性外激素主要成分——家蚕醇 (bombykol), 对 *BmPBP1* 的结构分析表明, 家蚕醇能结合到 *BmPBP1* 分子的口袋状内腔 (Sandler *et al.*, 2000; Horst *et al.*, 2001)。Nakagawa 等 (2004) 克隆了 *BmOR1* 和 *BmOR2* (实为 *BmOR3*, 以下均用 *BmOR3* 表示, 其基因符号为 *or3*), 它们在家蚕雄蛾触角内对性信息素敏感的毗邻的神经元中相互独立表达, 其中 *BmOR1* 特异性感受家蚕醇, *BmOR3* 感受家蚕醛 (bombykal), 且能提高 *BmOR1* 对家蚕醇的敏感性。Grosse-Wilde 等 (2006) 也有类似的发现。本研究克隆了野桑蚕的这 3 个和性信息素识别、感受相关的基因, 比较它们在家蚕 (大造) 和中国野桑蚕间的差异, 分析了家蚕和野桑蚕杂交困难的分子机理, 为杂交开发野桑蚕优良基因资源提供参考, 也有助于了解家蚕和野桑蚕种间的基因分化和进化情况。

1 材料与方法

1.1 野桑蚕蛾

野桑蚕茧采于苏州大学桑园, 培养箱内 25℃ 保护至羽化。

1.2 试剂

所用 RNA 抽提试剂、PCR 扩增试剂、胶回收试剂盒、pMD-19 载体均为 TaKaRa 公司产品; M-MLV 反转录酶为 Fermentas 公司产品。

1.3 野桑蚕基因的克隆与测序

取野桑蚕的雄蛾触角, 用 RNAiso Reagent 总 RNA 抽提试剂按说明书提取 RNA。总 RNA 经电泳检测和浓度测定后, 用 M-MLV 反转录酶反转录合成 cDNA 第一链, -20℃ 保存备用。

家蚕 (大造) *pbp1* (序列号: X94987)、*or1* (序列号: NM_001043410)、*or3* (序列号: NM_001043460) 基因核苷酸序列来自美国国立生物技术信息中心 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)。根据下载得到的这 3 个基因的核苷酸序列, 在其 mRNA 的 3' 和 5' 非编码区内, 用 Primer5 程序设计跨越开放式读码框 (ORF) 的引物。引物序列为: *Bmpbp1*F: 5'-GGGGATCCGATCAATTTATAGAT-3', *Bmpbp1*R: 5'-GAATCATGATCCTGCTTGCAA-3'; *Bmor1*F1: 5'-CGCAGAGCTTCAAGTTATGTTA-3', *Bmor1*R1: 5'-GCATTCCAATACCTAAGTACCTAC-3'; *Bmor1*F2: 5'-TGACCAAGGTCAAGACGCA-3', *Bmor1*R2: 5'-TACCGCCCACGCTACAAC-3'; *Bmor3*F1: 5'-TGACCGTGCTACTGTATCAGC-3', *Bmor3*R1: 5'-GCCCTTCAAGACAACATCAA-3'; *Bmor3*F2: 5'-GCCCTTCAAGACAACATCAA-3', *Bmor3*R2: 5'-CGAGTATTCGCTTCGTTTGA-3'。由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

以野桑蚕的触角 cDNA 为模版, 以上述引物分别进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 25 μL: 10 × PCR reaction buffer 2.5 μL, MgCl₂ 1.5 mmol/L, dNTPs 0.2 mmol/L, 上下游引物各 0.2 μmol/L, cDNA 模板 1 μL, Taq DNA 聚合酶 1 U。反应条件如下: 94℃ 3 min; 94℃ 40 s, 52~56℃ 45 s, 72℃ 80 s, 32 个循环; 72℃ 10 min。产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色后, 凝胶图像仪检测分析。胶回收和目的片段大小相似的片段, 将回收产物和 pMD19-T 载体连接进行 TA 克隆, 在转化的 TOP10 宿主菌中涂板、挑斑、摇菌培养, 菌液用相应引物 PCR 验证 (体系同上), 验证后的阳性克隆用

于测序。RT-PCR 到克隆测序重复 3 次以上。

1.4 基因序列分析

测序结果首先在 NCBI 中利用 BLAST 程序 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 比对分析, 检查序列的正确性。将多次测序结果用 Lasergene 程序中的 Seqman 联配, 用 DNASTar 查找 ORF 和 ORF 内的变异位点。分子量和等电点为 Lasergene 程序计算结果。

采用网络在线程序 PHD (www.predictprotein.org) 预测 3 个基因蛋白质的二级结构和功能位点。

1.5 分子进化分析

1.5.1 遗传距离分析: 利用 Mega4.0 程序中的 Kimura 双参数法计算核苷酸和氨基酸的遗传距离。

1.5.2 分子进化速率: 采用公式 $K_{aa} = (D_{aa}/N_{aa})/2T$ (Kimura, 1971) 进行计算。公式中 D_{aa} 是两种不

同生物同源蛋白质的氨基酸差异数, N_{aa} 是构成同源蛋白质的氨基酸个数, T 是两种生物的分歧进化时间, 家蚕和野桑蚕的分化时间以 7 000 年计 (李焕文, 1985; 鲁成等, 2002; Goldsmith *et al.*, 2005)。

2 结果与分析

2.1 野桑蚕和家蚕的 pbp1, or1 和 or3 基因变异分析

本实验测序得到的野桑蚕 3 个基因 (*pbp1*, *or1* 和 *or3*) 的核苷酸序列已在 GenBank 中注册, 序列号分别为 GQ246497, GQ246496 和 GQ246498), 将其与 NCBI 中下载得到的家蚕相应基因的 ORF 比较变异位点, 以及变异位点的氨基酸、蛋白质的分子量和等电点, 结果如表 1。

表 1 家蚕 (*Bm*) 和野桑蚕 (*Bmm*) 3 个基因 ORF 内变异比较
Table 1 Three genes mutation analysis in ORF of domesticated silkworm *Bombyx mori* (*Bm*) and wild silkworm *B. mandarina* (*Bmm*)

	基因变异位点、碱基和相对应的氨基酸 Mutation sites, bases and the corresponding amino acids				ORF 长度 Full length of ORF	成熟蛋白质分子量(D) MW of mature proteins	aa 等电点 pI
<i>pbp1</i> 核苷酸变异位点序号 No. of <i>pbp1</i> mutation sites	10	40	270	333			
<i>Bmpbp1</i>	... [C] AA..... [A] AC..... CT [T]..... CA [A]...				495		
	Q	N	L	Q	164	18 085.84	4.77
<i>Bmmpbp1</i>	... AAA..... TAC..... CTC..... CAG.....				495		
	K	Y	L	Q	164	18 134.95	4.89
<i>or1</i> 核苷酸变异位点序号 No. of <i>or1</i> mutation sites	910	1 147	1 192	1 276	1 282		
<i>Bmor1</i>	... [T] TT..... [A] GG..... [C] GA..... [C] TT..... [A] CG...				1 293		
8.37	F	R	R	L	T	430	49 762.96
<i>Bmmor1</i>	... CTT..... CGG..... CGT..... CTC..... ACA...				1 293		
8.37	L	R	R	L	T	430	49 728.95
<i>or3</i> 核苷酸变异位点序号 No. of <i>or3</i> mutation sites	507	513	605	672			
<i>Bmor3</i>	... AG [A]..... GG [A]..... A [T] T..... CT [G]...				1 320		
	R	G	I	L	439	50 808.52	8.14
<i>Bmmor3</i>	... AGG..... GGG..... ACT..... CTA...				1 320		
	R	G	T	L	439	50 796.46	8.14

[A]: 变异的碱基 The mutation bases;: 一致序列 Consensus bases.

由表 1 可知, 家蚕和野桑蚕间 *pbp1* 基因 ORF 内有 4 个核苷酸发生变异, 其中 2 个位点为颠换 (密码子第 1 位), 2 个位点为转换 (密码子第 3

位), 氨基酸序列有 2 个位点发生变异; *or1* 基因有 5 个核苷酸发生变异, 2 个位点为颠换 (密码子第 1 和 3 位), 3 个位点为转换 (密码子第 3 位), 氨基酸

变异 1 个; *or3* 基因变异核苷酸有 4 个, 全为转换 (1 个第 2 位, 3 个为密码子第 3 位), 氨基酸变异 1 个。从这些基因来说, 转化多于颠换, 且密码子变异多发生在第 3 位 (10/13), 多数为同义突变 (9/

13), 符合分子进化的中性学说和基因变异的一般规律。成熟蛋白质的分子量和等电点没有或者有微小的差异。

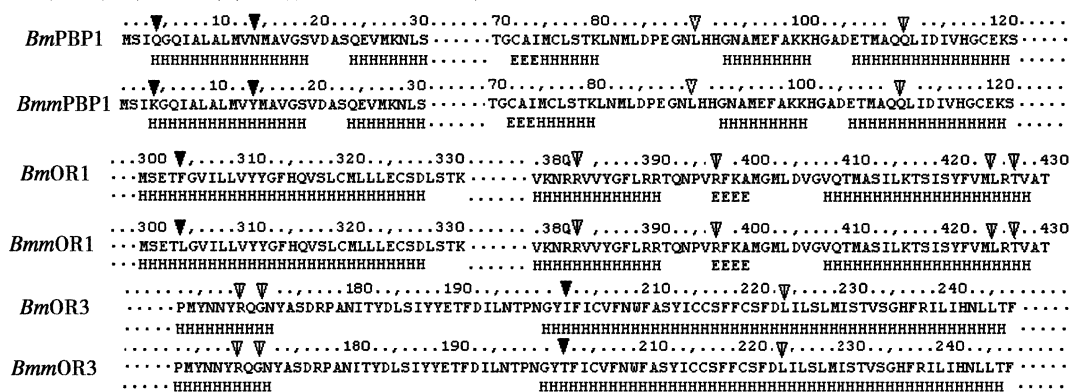


图 1 家蚕与野桑蚕 3 个基因二级结构变异位点

Fig. 1 Mutation sites in secondary structure of three genes of domesticated silkworm

Bombyx mori and wild silkworm *B. mandarina*

H: α -螺旋 Helix; E: β -折叠 Extended (sheet); 空白 Blank; 其他(环) Others (loop); 黑色三角形 Filled triangle: 核苷酸突变造成的氨基酸变异的位点 Mutated amino acids caused by nucleotide mutation; 白色三角形 Unfilled triangle: 核苷酸突变未造成氨基酸变异的位点 Non-mutated amino acid sites with nucleotide mutation;: 省略的序列 Unshown sequences.

2.2 野桑蚕和家蚕的 *pbp1*, *or1* 和 *or3* 基因遗传距离分析

由表 2 可知, 在家蚕和野桑蚕之间, *pbp1*, *or1* 和 *or3* 这 3 个基因的遗传距离都很近, 核苷酸遗传距离最大为 0.0083, 最小为 0.0021。氨基酸遗传距离最大为 0.0061, 最小的是 *or1* 基因为 0。*or1* 和 *or3* 间遗传距离明显较大。

表 2 家蚕与野桑蚕 3 个基因的核苷酸遗传距离 (左下角) 和氨基酸遗传距离 (右上角)

Table 2 The genetic distance of nucleotides (below the diagonal) and amino acids (above the diagonal) of three genes between domesticated silkworm *Bombyx mori* and wild silkworm *B. mandarina*

蛋白质 Proteins	1	2	3	4	5	6
1. <i>BmPBP1</i>		0.0122	-	-	-	-
2. <i>BmmPBP1</i>	0.0062		-	-	-	-
3. <i>BmOR1</i>	-	-		0.0000	0.5122	0.5183
4. <i>BmmOR1</i>	-	-	0.0021		0.5183	0.5244
5. <i>BmOR3</i>	-	-	0.8434	0.8507		0.0061
6. <i>BmmOR3</i>	-	-	0.8434	0.8507	0.0083	

2.3 野桑蚕和家蚕的 PBP1, OR1 和 OR3 3 种蛋白质氨基酸的进化速率

经计算得到, 家蚕和野桑蚕 PBP1, OR1 和

OR3 的氨基酸进化速率分别为: 8.71×10^{-7} 个(氨基酸)/年、 1.66×10^{-7} 个(氨基酸)/年、 1.62×10^{-7} 个(氨基酸)/年。

3 讨论

3.1 野桑蚕和家蚕的 *pbp1*, *or1* 和 *or3* 基因的变异

野桑蚕和家蚕的 3 个嗅觉相关基因核苷酸变异主要发生了转换 (9/13), 突变大多发生在密码子的第 3 位 (9/13), 发生在第 2 位仅有 1 个, 这和它们承受的进化压力较小有关; 而发生变异的氨基酸只有 4 个, 主要是同义突变所致, 符合分子进化的中性学说。总体而言, 家蚕和野桑蚕的这 3 个基因的核苷酸差异很小, 和前人结果 (Martinez *et al.*, 2004) 类似。蛋白质的分子量和等电点没有变化或有细微差异, 蛋白质的理化性质基本没有变化。当然, 这些细微差异也不足以引起其构象的变化 (Horst *et al.*, 2001)。

二级结构预测发现, 氨基酸变异没有引起毗邻区域的二级结构发生改变, 同时预测的内部功能位点也没有发生变化 (结果未列出)。对于 PBP1, 鳞翅目昆虫保守的氨基酸残基完全没有变异 (Sandler *et al.*, 2000), 当然, 维系其蛋白质空间结构的保守二硫键也没有改变。因此, 其结合、运载性信息素的能力也没有差异。家蚕和野桑蚕 *or1* 基因氨基

酸的遗传距离为 0, 该基因基本上没有发生变异(仅 1 个氨基酸变异), 因此功能上也应该一致, 这也间接说明了 OR1 在家蚕和野桑蚕种内对 PBP1 运载的性信息素产生的应答反应可能是完全相同的。*or3* 基因变异也较小, 且该基因表达产物 OR3 主要对蚕蛾性信息素的次要成分——家蚕醛发生反应(Nakagawa *et al.*, 2005; Grosse-Wilde *et al.*, 2006), 同时 OR3 的功能位点也没有变异, 故其执行的功能未发生变化。生理实验证明, 野桑蚕雄蛾嗅觉感受细胞对家蚕醇和家蚕醛刺激均能产生电反应(吴才宏和邹文云, 1995)。而杂交试验中, 家蚕和野桑蚕杂交时是可以相互识别, 并且有明显的振翅、趋向等性行为反应, 且家蚕和野桑蚕可以杂交, 只是交配较为困难, 表明在家蚕和野桑蚕间性信息素的运载和受体激发过程能够顺利完成, 说明了参与其中的这些基因所执行的功能没有大的变化, 或者说没有变化。而生殖相关的基因比较保守, 它们没有受到正向压力的影响(钱吉凤, 2006), 所以家蚕和野桑蚕间的交配困难可能是由其他性状的差异引起的。

3.2 野桑蚕和家蚕的 *pbp1*, *or1* 和 *or3* 基因的进化比较

遗传和进化分析基于分子进化的中性学说。本实验研究的 3 个嗅觉相关基因在家蚕和野桑蚕间的遗传距离都很近, 说明了二者的亲缘关系非常近, 也是野桑蚕向家蚕进化的分子水平证据。它们的种间分歧, 不是取决于自然选择所驱动的有利突变的固定, 而是取决于中性突变的随机固定。功能重要的基因或基因区域进化速度较慢, 或者说功能的重要性和核苷酸置换率负相关这也是分子进化的一个普遍现象(杨子恒, 2008)。

参 考 文 献 (References)

- Goldsmith MR, Shimada T, Abe H, 2005. The genetics and genomics of the silkworm, *Bombyx mori*. *Annu. Rev. Entomol.*, 50: 71–100.
- Gong CL, Osa M, Hara W, 2005. Mitochondrial hetroplasm in offspring hybridized between *Bombyx mori* and *Bombyx mandarina*. *Journal of Soochow University (Engineering Science Edition)*, 25(1): 19–20. [贡成良, 蜷木理, 原和二郎, 2005. 家蚕和野蚕杂交后代线粒体的异质性. 苏州大学学报(工科版), 25(1): 19–20]
- Grosse-Wilde E, Svatoš A, Krieger J, 2006. A pheromone-binding protein mediates the bombykol-induced activation of a pheromone receptor *in vitro*. *Chem. Sens.*, 31(6): 547–555.
- Hildebrand JG, 1996. Olfactory control of behavior in moths: Central processing of odor information and the functional significance of olfactory glomeruli. *J. Comp. Physiol.*, 178(1): 5–19.
- Horst R, Damberger F, Luginbühl P, Guntert P, Peng G, Nikonova L, Leal WS, Wuthrich K, 2001. NMR structure reveals intramolecular regulation mechanism for pheromone binding and release. *PNAS*, 98(25): 14 374–14 379.
- Kimura M, Ota T, 1971. On the rate of molecular evolution. *J. Mol. Evol.*, 1(1): 1–17.
- Leal WS, Chen AM, Erickson ML, 2005. Selective and pH-dependent binding of a moth pheromone to a pheromone-binding protein. *J. Chem. Ecol.*, 31(10): 2 493–2 499.
- Li B, Kunikatsu H, Osa M, Hara W, Shen WD, 2006. Investigation the characters of springs hybridized between Chinese wild and Japanese domesticated silkworm. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 6(2): 305–307. [李兵, 浜野国胜, 蜷木理, 原和二郎, 沈卫德, 2006. 中国野桑蚕和日本家蚕杂交后代的性状调查. 江苏农业科学, 6(2): 305–307]
- Li HW, 1985. Probing into the origin and voltismal variations of mulberry silkworms. *Newsletter of Sericultural Science*, (1): 41–45. [李焕文, 1985. 蚕桑与家蚕的起源及其化性变化的探索. 蚕学通讯, (1): 41–45]
- Lu C, Yu HS, Xiang ZH, 2002. Molecular systematic studies on Chinese mandarina silkworm (*Bombyx mandarina* M.) and domestic silkworm (*Bombyx mori* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 35(1): 94–101. [鲁成, 余红仕, 向仲怀, 2002. 中国野桑蚕和家蚕的分子系统学研究. 中国农业科学, 35(1): 94–101]
- Martinez L, Almagro JC, Coll JL, Herrera RJ, 2004. Sequence variability in the fibroin-H intron of domesticated and wild silk moths. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34(4): 343–352.
- Mita K, Kasahara M, Sasaki S *et al.*, 2004. The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*. *DNA Res.*, 11: 27–35.
- Nakagawa T, Sakurai T, Nishioka T, Touhara K, 2005. Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors. *Science*, 307: 1 638–1 642.
- Oldham NJ, Krieger J, Breer H, Fischedick A, Hoskovec M, Svatos A, 2000. Analysis of the silkworm moth pheromone binding protein-pheromone complex by electrospray-ionization mass spectrometry. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39(23): 4 341–4 343.
- Peng WP, 1987. The morphological breeding of wild silkworm in China. *Newsletter of Sericultural Science*, 1: 48–53. [彭卫平, 1987. 中国野桑蚕性状的育种学研究. 蚕学通讯, 1: 48–53]
- Prestwich GD, 1996. Proteins that smell: Pheromone recognition and signal transduction. *Bioorg. Med. Chem.*, 4(3): 505–513.
- Qian JF, 2006. Initial Study on Gene Mutation and Artificial Selection from *Bombyx mandarina* to *Bombyx mori*. MSc Thesis, Southwest University, Chongqing. [钱吉凤, 2006. 从野桑蚕到家蚕的基因突变与人工选择初步研究. 重庆: 西南大学硕士学位论文]
- Sandler BH, Nikonova L, Leal WS, Clardy J, 2000. Sexual attraction in the silkworm moth: Structure of the pheromone-binding-protein-bombykol complex. *Chem. Biol.*, 7(2): 143–151.
- Syed Z, Ishida Y, Taylor K, Kimbrell DA, Leal WS, 2006. Pheromone reception in fruit flies expressing a moth's odorant receptor. *PNAS*, 103(44): 16 538–16 543.
- The International Silkworm Genome Consortium, 2008. The genome of a

- lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38(12): 1 036 – 1 045.
- Wu CH, Zou WY, 1995. Pheromone receptor cells in the male moth *Bombyx mandarina*. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 31(2): 250 – 254. [吴才宏, 邹文云, 1995. 桑野蚕雄蛾的性信息素感受细胞. 北京大学学报(自然科学版), 31(2): 250 – 254]
- Xia QY, Zhou ZY, Lu C *et al.*, 2004. A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*). *Science*, 306: 1 937 – 1 940.
- Yang ZH (Translated by Zhong Y *et al.*), 2008. Computational Molecular Evolution. Fudan Press, Shanghai. 260 – 264. [杨子恒著(钟扬等译), 2008. 上海: 复旦大学出版社. 260 – 264]
- Zhang YH, Xiao JS, Zhou AL, 2004. Influence of consanguinity of mulberry wild silkworm (*Bombyx mandarina* M.) on the characters of silkworm (*Bombyx mori* L.). *Newsletter of Sericultural Science*, 24(3): 5 – 7. [张友洪, 肖金树, 周安莲, 2004. 野桑蚕血缘对家蚕性状的影响. 蚕学通讯, 24(3): 5 – 7]
- (责任编辑: 赵利辉)